

Новый метод синтеза микрогелей хитозана

Пономарев В.С., Миронов М.А.,* Бакулев В.А.

УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Мира 19, Екатеринбург. Факс: 343 375 4135; тел: 343 375 4888; E-mail: mironov@mail.ustu.ru

Мы представляем простой и эффективный метод синтеза микрогелей на основе природного полисахарида хитозана. Различные параметры проведения синтеза, такие как концентрация полимера, тип добавок, оптимальное значение pH были оптимизированы для получения стабильной коллоидной системы. Основное внимание в этом исследовании было сфокусировано на эффекте эмульсификации в ходе получения наночастиц в водной растворе.

Введение

Поверхностно-активные вещества широко используются в различных сферах деятельности: от получения пищевых эмульсий до интенсификации нефтедобычи. Несмотря на огромный выбор коммерчески доступных поверхностно-активных веществ существует целый ряд нерешенных проблем, связанных с низкой биосовместимостью и биоразлагаемостью этих соединений. Поэтому разработка новых классов веществ, обладающих высокой поверхностной активностью в сочетании с возможностью утилизации в природной среде, является актуальной задачей. Все имеющиеся на рынке поверхностно-активные соединения можно разделить на три группы: низкомолекулярные ионные вещества, содержащие заряженные группировки; неионные, содержащие остатки полиоксиэтилена; поверхностно-активные полимеры. Последняя группа наиболее перспективна для создания новых биосовместимых поверхностно-активных соединений. Модифицированные природные полисахариды, например эмульсан, уже сегодня используются в качестве эмульгатора в косметической промышленности.

В последние годы появились исследования, посвященные эмульгирующим и пенообразующим свойствам микрогелей на основе производных полиакриламида и других синтетических полимеров¹. Химически-сшитые полимерные частицы с диаметром от 50 до 500 нм проявили значительно более выраженную поверхностную активность, чем исходные полимеры. В тоже время микрогели проявляют избирательность к субстрату, то есть образуют эмульсии с определенными компонентами². Кроме того, эмульгирующая способность микрогелей может меняться в зависимости от концентрации, ионной силы раствора, температуры и pH³. Это позволяет сделать прогноз, что поверхностно-активные микрогели найдут применение в таких областях, где требуются соединения, способные изменять свои физико-химические свойства в зависимости от параметров среды. Особенно интересными являются возможности, открывающиеся перед этими соединениями в сфере медицины и биотехнологии⁴. В качестве примера можно привести направленное выделение лекарственных веществ в желудочно-кишечном

тракте в зависимости от pH; образование сверхтонких полимерных пленок, микро- и нанокапсулирование.

Традиционные эмульгаторы и гелеобразующие полимеры могут быть модифицированы с целью создания подобных микрогелей, способных к сложному поведению. Одними из таких биополимеров является хитозан, который очень широко используется в пищевой промышленности как гелеобразователь и пищевая добавка. Он обладает биосовместимостью и может расщепляться под действием ферментных систем в естественной среде. В тоже время поверхностно-активные свойства у этого полимера выражены слабо, до сегодняшнего дня он лишь ограниченно использовался как коллоидный стабилизатор эмульсий. Поэтому целью данной работы была модификация природного хитозана, с целью получения микрогелей, обладающих ярко выраженной поверхностной активностью.

Полимерные цепи в микрогелях могут быть сшиты с помощью химических реагентов или же они могут быть соединены микрокристаллическими областями⁵. Во втором случае, для получения микрогеля не требуется использования химических реагентов и конечный продукт полностью состоит из чистого хитозана, что важно для биомедицинского применения. В данной работе мы использовали этот подход для получения микрогелей.

Результаты и обсуждение

В соответствии с целями нашего исследования нам было необходимо проверить возможность модификации хитозана, используя различные методики и реактивы. Затем нам было необходимо научиться получать устойчивые, чувствительные к pH и ионной силе среды эмульсии вода – органический растворитель в присутствии микрогеля на границе раздела фаз.

Для решения поставленных задач мы использовали соли хитозана с двухосновными кислотами: глутаровой, адипиновой и пимелиновой (Схема 1). Известно, что хитозан нерастворим в воде, в тоже время его соли с органическими и неорганическими кислотами хорошо растворимы в воде. При определенном соотношении хитозан – кислота возможно образование коллоидных

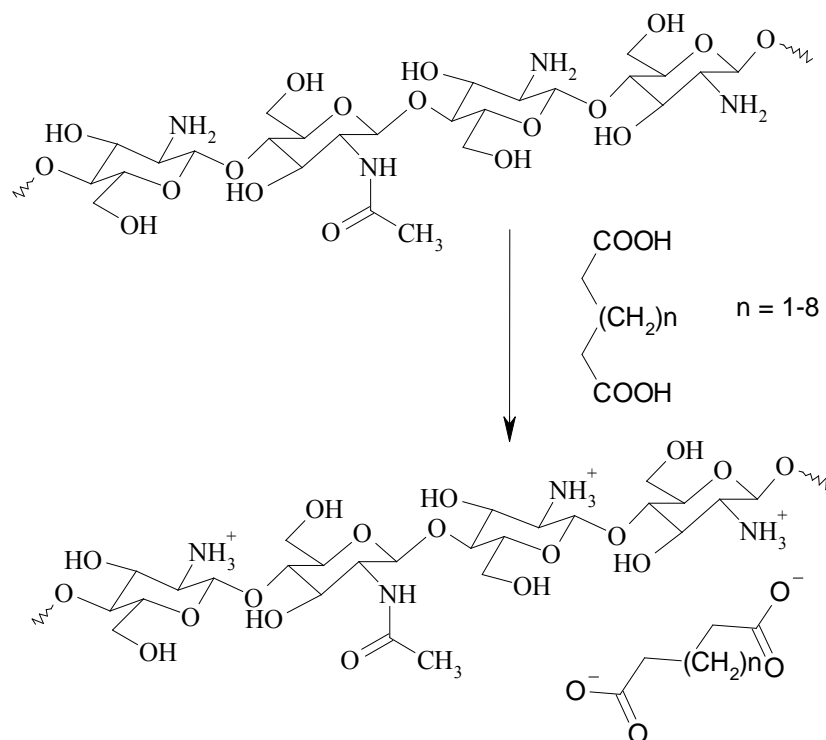


Схема 1. Получение солей хитозана с двухосновными кислотами

растворов. К сожалению, образование наночастиц при частичной нейтрализации солей хитозана сопровождается выделением фазы макрогеля. Кроме того, в растворе присутствует растворимый полимер, что делает этот метод получения наночастиц непригодным для практического использования.

В данной работе мы использовали оригинальный подход основанный на использовании кластеров, образующихся на поверхности раздела фаз органический растворитель – вода. Было обнаружено, что при добавлении растворов двухосновных кислот в хлористом метиле к раствору гидрохлорида хитозана в воде образуется эмульсия, устойчивость которой зависит от значения pH. При определенных значениях (6.2-6.8) наблюдается разрушение эмульсии с образованием раствора наночастиц солей хитозана. В рамках данного исследования были определены факторы влияющие на размер и устойчивость этих наночастиц.

Из литературных данных известно, что для микрогелей существует зависимость между диаметром капли эмульсии и диаметром частиц микрогеля². При образовании эмульсии частицы микрогеля покрывают капли органического растворителя и образуют новую фазу в системе вода – органический растворитель – микрогель. Зная концентрацию микрогеля в водной фазе, можно определить его количество на границе раздела. Исходя из среднего размера капель можно определить площадь этой поверхности, а следовательно объем гелевой фазы и средний размер частиц. Полученные нами значения колебались в пределах 110-520 нм для различных образцов микрогелей. Эти значения имели хорошую

корреляцию с данными полученными методом динамического светорассеяния (Таблица 1).

В ходе данного проекта мы выявили четкую зависимость, связывающую pH раствора и размер образующихся частиц. Так при повышении pH от 6.2 до 6.8, средний диаметр частиц микрогеля увеличивался от 130 до 550 нм. Это важное наблюдение, которое позволит контролировать размер частиц микрогеля при проведении синтеза. В тоже время такие факторы как ионная сила раствора и температура не оказывают существенного влияния на размер образующихся частиц.

Были проведены опыты по образованию наночастиц из растворов с концентрацией хитозана 1 г/л и различных дикарбоновых кислот. Было испытано поведение, образующихся в результате коллоидных растворов, при варьировании ионной силы и pH раствора, а также при добавлении гидрофильных и гидрофобных добавок. Во всех случаях, при слабо кислой реакции среды, большой ионной силе и добавке гидрофобного вещества коллоидный раствор образует очень устойчивые эмульсии (Рисунок 1). Наиболее устойчивые наночастицы были получены при использовании пимелиновой и себаценовой кислот. Таким образом, длина цепи оказывает большое влияние на стабильность коллоидной системы.

Таблица №1 Размеры наночастиц хитозана

№	pH	Размер, нм (расчет)	Размер, нм (светорассеяние)
1	6.2	110	130
2	6.4	240	250
3	6.6	375	370
4	6.8	520	550

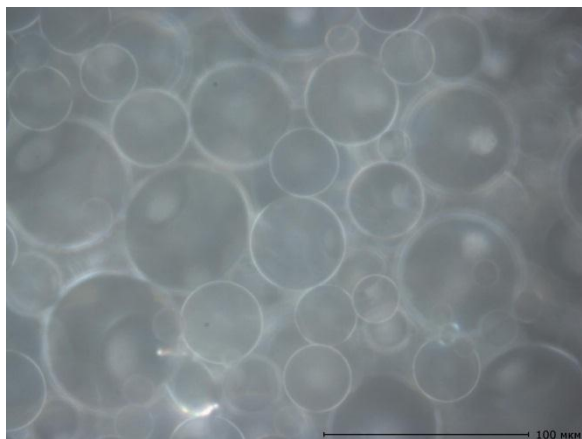


Рис. 1 Эмульсия микрогеля хитозана

Было показано, что при добавлении гидрофобных молекул (например триглицеридов) в растворитель, из которого образуется эмульсия, на поверхности капель образуется плотная оболочка. Из этого можно сделать заключение, что устойчивая эмульсия образуется, если сохраняется постоянный баланс между силами отталкивания и притяжения между частицами образующими поверхностно активный слой.

Если силы притяжения преобладают, то образуются слишком плотные неразрушающиеся плёнки. И наоборот, если преобладают силы отталкивания, то образующиеся эмульсии неустойчивые. Мы показали, что этим балансом можно управлять, варьируя количество гидрофильных и гидрофобных добавок. Так устойчивость эмульсий увеличивается при добавлении гидрофобных молекул и уменьшается при добавлении кислот и гидрофильных молекул (например полиоксиэтилен 200).

Таким образом нами впервые были получены наночастицы природного полисахарида хитозана на границе раздела фаз масло-вода. Показано, что в зависимости от pH и ионной силы раствора данная реакция может приводить к образованию макро и микрогелей. Полученные таким образом микрогели проявили ярко выраженную способность к стабилизации эмульсий органических растворителей в воде при низких (меньше 1 г/л) концентрациях. В результате работы получены биосовместимые и

биоразлагаемые стабилизаторы эмульсий чувствительные к изменению pH и ионной силы растворов, которые могут быть использованы, как эмульгаторы, пенообразователи, а также компоненты микрокапсул в пищевой и медицинской промышленности.

Экспериментальная часть

Результаты исследования были подтверждены данными динамического светорассеяния снятыми при помощи спектрометра Malvern Zetasizer Nano SL, спектров ядерно-магнитного резонанса снятых при помощи спектрометра Bruker DRX-400, 400 МГц, инфракрасных спектров снятых при помощи спектрометра – Bruker Alpha. Количественные характеристики эмульсии были зафиксированы при помощи инвертированного микроскопа OLYMPUS GX - 71 с выводом изображения на жидкокристаллический монитор, для обработки изображения использовалась программа SIAMS Potolab.

Общая методика получения микрогелей хитозана.

Пимелиновую кислоту (10 мг) растворяют в хлористом метиле (40 мл). Отдельно готовят раствор хитозана (120 мг) в 100 мл разбавленного раствора соляной кислоты (0.6 ммоль). Полученные растворы диспергируют, получая эмульсию типа масло в воде, а затем доводят pH до заданного значения добавлением разбавленного раствора едкого натра (2 ммоль/л).

Библиографический список

- 1 S. Fujii, Y. Cai, J. V. M. Weaver, S. P. Armes // Journal of American Chemical Society. **2005**. Vol. 127. P. 7304.
- 2 B. Brugger, S. Rütten, K.H. Phan, M. Möller, W. Richtering // Angewandte Chemie. **2009**. Vol. 121. P. 4038.
- 3 B. R. Saunders, N. Laajam, E. Daly, S. Teow, X. Hu, R. Stepto // Advances in Colloid and Interface Science. **2009**. Vol. 147-148. P. 251.
- 4 O. C. Farokhzad, R. Langer // Advanced Drug Delivery Reviews. **2006**. Vol. 58. P. 1456.
- 5 F. Brunel, L. Veron, C. Ladaviere, L. David, A. Domard, T. Delair // Langmuir. **2009**. Vol. 25. P. 8935.